

Localization of [D-Ala²] deltorphin I-like immunoreactivity in perinatal rat respiratory system

著者	松井 寿美
発行年	1994-12-26
その他の言語のタイトル	出生前後のラットの呼吸器系における [D-Ala ²] deltorphin I 様免疫陽性物質の局在について シュッセイ ゼンゴ ノ ラット ノ コキユウキケイ ニ オケル D Ala ² deltorphin I ヨウ メンエキ ヨ ウセイ ブッシツ ノ キョクザイ ニ ツイテ
URL	http://hdl.handle.net/10422/2064

氏 名・(本籍)	松 井 寿 美 (滋賀県)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	博士第171号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成6年12月26日
学 位 論 文 題 目	Localization of [D-Ala ²] deltorphin I-like immunoreactivity in perinatal rat respiratory system (出生前後のラットの呼吸器系における [D-Ala ²] deltorphin I 様免疫陽性物質の局在について)
審 査 委 員	
主査 教授 越 智 淳 三	
副査 教授 前 田 敏 博	
副査 教授 天 方 義 邦	

論 文 内 容 要 旨

[目 的]

δ-オピオイドレセプターに選択的親和性を持つ物質である[D-Ala²] deltorphin I (以後DADTIと略する)は、南アメリカ原産の蛙である*Phyllomedusa bicolor*の皮膚から抽出された。われわれは、出生前後の未熟なラットの呼吸器において、DADTI様免疫陽性物質が分布していることに着目し、免疫染色ならびに電子顕微鏡を用いて観察して検討した。

[方 法]

胎生15日から生後30日までの出生前後の時期のウイスター系ラットそれぞれ5匹について、灌流固定した肺、気管、気管支を用い、DADTI様免疫反応陽性物質の分布と日齢による変化を、免疫組織化学の手法により光学顕微鏡で観察した。さらに電子顕微鏡により、DADTI様免疫陽性細胞の微細構造を観察し、細胞の同定および、その分泌形態について検討した。

[結 果]

DADTI様免疫陽性細胞は、胎生16日にはじめて主気管支において観察された。発生が進むにつれ免疫陽性細胞は、主気管支より細気管支へと徐々に末梢へ拡がっていった。免疫陽性細胞の密度は、胎生21日にピークに達し、生後、中枢側より徐々に減少していった。生後30日には、免疫陽性細胞はもはや気道のどこにも認められなかった。また、実験に用いた全ての日齢を通して、免疫陽性細胞は気管と肺胞には認められなかった。電子顕微鏡下での観察では、免疫陽性細胞は形態学的に、気道上皮の漿液細胞やクララ細胞に類似していた。免疫反応産物は陽性細胞の管腔側の細胞質に位置する傾向がみられた。

[考 察]

気管上皮細胞の外分泌細胞は3種類に分類できる。杯細胞と漿液細胞とクララ細胞である。この3種類の細胞はいずれも線毛をもたない無線毛細胞であり、細胞上部の細胞質に顆粒を持っている。杯細胞は、上皮細胞の1%のみを占める。漿液細胞は最も主要な外分泌細胞であり、中枢側の気道に多く存在するが、末梢気道にも一部存在する。クララ細胞は第2～3分岐より末梢の気管支にみられ、その部位

での上皮細胞の25~50%を占める。DADTI様免疫陽性細胞は気管支と細気管支の両方で認められたが、気管や肺胞には認められなかった。DADTI様免疫陽性細胞は、電子顕微鏡による検索により、無線毛外分泌細胞であることがわかった。杯細胞を観察できることはこの研究を通してなく、DADTI様免疫陽性細胞は、漿液細胞かクララ細胞であった。しかしこの両者は微細構造上、滑面小胞体の量でしか差がなく、見分けることは困難であった。ラットでは気道の粘液腺はごく稀であり、漿液細胞とクララ細胞がほとんどその役割を担う。クララ細胞は種々の生物活性物質の産生や分泌と関連するとされているが、オピオイドペプチドがこれら外分泌細胞に見られた例はない。しかしラットの若年期に、bombesin、calcitonin、CGRPといったペプチドやserotoninが一時的に気道内分泌細胞にみられ、これらが肺の成熟に関与している事は示唆されてきた。このことよりDADTI様物質もまた、肺の発達の早い時期において、肺の成長因子や分化決定因子としての役割を担っているのかもしれない。

[結 論]

δ -オピオイドペプチドであるDADTIの出生前後のラットの呼吸器系における分布について免疫組織化学的手法を用いて調べた。DADTI様免疫陽性細胞は胎生16日に主気管支において初めて出現し、成長につれて主気管支より呼吸細気管支へと徐々に拡がっていった。胎生21日に免疫陽性細胞の密度はピークに達し、生後徐々に減少していった。生後30日には陽性細胞はもはや気道のどこにも認められなかった。また、すべての時期を通して陽性細胞は気管と肺胞には認められなかった。電子顕微鏡下での観察では、陽性細胞は形態学的に気道上皮の漿液細胞かクララ細胞に類似していた。免疫反応産物は陽性細胞の管腔側の細胞質に位置する傾向が見られた。このことよりDADTI様物質は、ラット気道の漿液細胞かクララ細胞、あるいはその両方において、外分泌されることが示唆された。また、DADTI様免疫陽性細胞物質は、出生前後の非常に短い期間に限られて認められていることから、肺の発達のある時期において、肺の成長因子や分化決定因子としての役割を担っている可能性がある。

学位論文審査の結果の要旨

[D-Ala²] deltorphin I (以後DADTIと略する) は、 δ -オピオイドレセプターに選択的親和性を持つペプチドであるが、本論文には、ペプチドがラットの肺において出生前後の未熟な時期に認められることを報告したものである。

方法としては、肺に免疫組織化学染色を施し、光学顕微鏡、電子顕微鏡によりDADTI様免疫陽性細胞の増減、分布の変化、微細構造を観察し、検討した。

DADTI様免疫陽性細胞は胎生16日に主気管支において初めて出現し、成長につれて主気管支より呼吸細気管支へと徐々に拡がった。胎生21日に免疫陽性細胞の密度はピークに達し、生後徐々に中枢側より減少した。生後30日には陽性細胞はもはや気道のどこにも認められなかった。また、すべての時期を通して陽性細胞は気管と肺胞には認められなかった。電子顕微鏡による観察の結果、DADTI様免疫陽性細胞は基底側に不整形な核を持つ立方形の無線毛外分泌細胞であり、DADTI様物質は、核上部の細胞質にのみ認められた。

細胞先端部でのみ抗体によって認識されたのは、核上部でできた長鎖前駆物質が細胞先端へと移動しながら切断され、先端部ではじめて抗DADTI抗体により認識されたためと考えられる。また、DADTI様免疫陽性物質を持つ細胞の細胞膜は全く開口分泌の像を示さなかったので、透出分泌の様式で気管内へ分泌されているものと考えられた。分布していた位置や電子顕微鏡による所見より、DADTI様免疫陽性細胞は漿液細胞かクララ細胞であると思われた。

ラットの若年期に、種々のペプチドが一時的に気道の内分泌細胞にみられ、これらが肺の成熟に関与している事が知られている。また肺の内因性オピオイドとしてはエンケフェリンが見つかり、これも肺の成熟に関与している事が示唆されている。しかし、本研究は外分泌細胞にDADTI様物質の出現を示したものであり、出生前後の非常に短い期間に限られて認められていることから、このオピオイドペプチドもまた肺の発達のある時期において、肺の成長因子や分化決定因子としての役割を担っている可能性が考えられる。

本研究は内因性オピオイドペプチドが、出生前後期のラットの肺において産出、外分泌され、重要な役割を果たしている可能性のあることを示唆したもので、博士（医学）の学位論文に値するものと認められる。